

BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND



Prioritätsbescheinigung über die Einreichung einer Patentanmeldung

Aktenzeichen: 101 03 565.9

Anmeldetag: 26. Januar 2001

Anmelder/Inhaber: FAUSTUS FORSCHUNGS CIE TRANSLATIONAL
CANCER RESEARCH GMBH, Leipzig/DE

Bezeichnung: Zusammensetzungen, enthaltend einen
Ruthenium(III)-komplex und einen Heterocyclus

IPC: A 61 K 31/416

Die angehefteten Stücke sind eine richtige und genaue Wiedergabe der ursprünglichen Unterlagen dieser Patentanmeldung.

München, den 09. Oktober 2003
Deutsches Patent- und Markenamt
Der Präsident
Im Auftrag



Scholz

GRÜNECKER KINKELDEY STOCKMAIR & SCHWANHÄUSSER

ANWALTSSOZIELTÄT

GKS & S MAXIMILIANSTRASSE 58 D-80538 MÜNCHEN GERMANY

RECHTSANWÄLTE LAWYERS

MÜNCHEN
DR. HELMUT EICHMANN
GERHARD BARTH
DR. ULRICH BLUMENRÖDER, LL.M.
CHRISTA NIKLAS-FALTER
DR. MAXIMILIAN KINKELDEY, LL.M.
SONJA SCHÄFFLER
DR. KARSTEN BRANDT
ANJA FRANKE, LL.M.
UTE STEPHANI
DR. BERND ALLEKOTTE, LL.M.

PATENTANWÄLTE EUROPEAN PATENT ATTORNEYS

MÜNCHEN
DR. HERMANN KINKELDEY
PETER H. JAKOB
WOLFHARD MEISTER
HANS HILGERS
DR. HENNING MEYER-PLATH
ANNELIE EHNOLD
THOMAS SCHUSTER
DR. KLARA GOLDBACH
MARTIN AUFENANGER
GOTTFRIED KLITZSCH
DR. HEIKE VOGELSANG-WENKE
REINHARD KNAUER
DIETMAR KUHLE
DR. FRANZ-JOSEF ZIMMER
BETTINA K. REICHELT
DR. ANTON K. PFAU
DR. UDO WEIGELT
RAINER BERTRAM
JENS KOCH, M.S. (U of PA) M.S.
BERND ROTHAEDEL
DR. DANIELA KINKELDEY
DR. MARIA ROSARIO VEGA LASO

PATENTANWÄLTE EUROPEAN PATENT ATTORNEYS

KÖLN
DR. MARTIN DROPMANN

CHEMNITZ
MANFRED SCHNEIDER

BERLIN
DIETER JANDER

OF COUNSEL PATENTANWÄLTE

AUGUST GRÜNECKER
DR. GUNTER BEZOLD
DR. WALTER LANGHOFF

DR. WILFRIED STOCKMAIR
(-1996)

IHR ZEICHEN / YOUR REF.

UNSER ZEICHEN / OUR REF.

DATUM / DATE

P 32 424-00989/co

26.01.2001

**Zusammensetzungen, enthaltend einen Ruthenium(III)-
komplex und einen Heterocyclus**

**FAUSTUS FORSCHUNGS CIE.
TRANSLATIONAL CANCER RESEARCH GMBH
GRIMMAISCHE STR. 2-4
04109 LEIPZIG**

GRÜNECKER KINKELDEY
STOCKMAIR & SCHWANHÄUSSER
MAXIMILIANSTR. 58
D-80538 MÜNCHEN
GERMANY

TEL. +49 89 21 23 50
FAX (GR 3) +49 89 22 02 87
FAX (GR 4) +49 89 21 86 92 93
<http://www.grunecker.de>
e-mail: postmaster@grunecker.de

DEUTSCHE BANK MÜNCHEN
No. 17 51734
BLZ 700 700 10
SWIFT: DEUT DE MM

Zusammensetzungen, enthaltend einen Ruthenium(III)-komplex und inen Heterocyclus

Die vorliegende Erfindung betrifft Zusammensetzungen, die einen Ruthenium(III)-komplex und einen Heterocyclus umfassen, sowie deren Verwendung als Arzneimittel zur Behandlung von Krebserkrankungen.

Die mögliche Verwendbarkeit von Rutheniumkomplexen zur Behandlung von Krebserkrankungen wurde von M.J. Clarke, ACS Symp. Ser. 140 (1980) 157-180 diskutiert.

Komplexverbindungen des dreiwertigen Rutheniums mit Pyrazol und Imidazol wurden von F. Kralik et al., Collection Czeckoslov. Chem. Commun. 26 (1961) 1298 und von B. K. Keppler et al., Inorg. Chem., 26 (1987) 4366-4370 beschrieben.

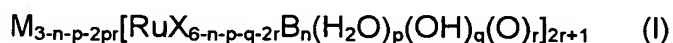
Ferner wurden Ruthenium(III)-Komplexe mit Indazol und Dimethylsulfoxid von B.K. Keppler et al., Anticancer Res., 9 (1989) 761-766, G. Mestroni et al., J.Am.Chem.Soc. 111 (1989) 7068-7071 und G. Mestroni et al., Inorg. Chem., 34 (1995) 4722-4734 untersucht.

In der US-PS 4,843,069 werden Arzneimittel beschrieben, die Ruthenium(III)-Komplexe mit einem ein- oder mehrkernigen basischen Heterocyclus enthalten. Die Komplexe sind zur Krebstherapie geeignet, jedoch schwer wasserlöslich und daher nicht lyophilisierbar.

Um diesen Nachteil zu vermeiden, offenbart die WO97/36595 Ruthenium(III)-Komplexe mit einem Alkalimetallkation oder mit Ammonium, die gut wasserlöslich und ebenfalls wirksam zur Behandlung von Krebserkrankungen sind. Diese Verbindungen haben jedoch den Nachteil, dass sie eine geringere Wirksamkeit als Rutheniumkomplexe nach der US-PS 4,843,069 aufweisen.

Daher liegt der vorliegenden Erfindung die Aufgabe zugrunde, die vorstehend genannten Nachteile zu vermeiden und eine Zusammensetzung zur Verfügung zu stellen, die gut wasserlöslich ist und eine hohe Wirksamkeit zur Behandlung von Krebserkrankungen aufweist.

Diese Aufgabe wird gelöst durch eine Zusammensetzung, erhältlich durch Umsetzen einer Komplexverbindung der allgemeinen Formel (I)



worin

M ein Alkalimetallkation oder Ammonium,

B ein ein- oder mehrkerniger basischer Heterocyclus mit einem oder mehreren Stickstoffatomen,

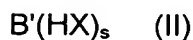
X ein Halogenid, Pseudohalogenid, HCO_3^- - oder $RCOO^-$, worin R ein substituiertes oder unsubstituiertes $C_1 - C_6$ -Alkyl oder $C_2 - C_6$ -Alkenyl oder ein substituiertes oder unsubstituiertes Aryl ist,

$n = 1$ oder 2 ,

$p, q = 0$ oder 1 oder (falls $r = 0,5$) 0 oder $0,5$, und

$r = 0$ oder $0,5$ ist,

mit einer Verbindung der Formel (II)



worin

B' eine ein- oder mehrkernige basische heterocyclische Gruppe mit einem oder mehreren Stickstoffatomen,

X wie vorstehend, und

s eine ganze Zahl von 1 oder mehr ist.

B in der Formel (I) ist vorzugsweise ein Imidazol, Pyrrazol, Triazol oder Indazol.

B' in der Formel (II) ist vorzugsweise eine Imidazol-, Pyrrazol-, Triazol- oder Indazol-Gruppe.

Weiterhin ist in der erfindungsgemäßen Zusammensetzung M in der Formel (I) bevorzugt Lithium, Natrium oder Kalium.

X ist in der Formel (I) oder (II) bevorzugt Chlor oder Brom.

Das molare Verhältnis der Verbindung der Formel (I) zur Verbindung der Formel (II) in der erfindungsgemäßen Zusammensetzung ist vorzugsweise <1 , besonders bevorzugt ist ein Verhältnis zwischen 1:2 und 1:5.

In einer bevorzugten Ausführungsform ist die Verbindung der Formel (I) Natrium-*trans*-tetrachlorobis(1H-indazol)-ruthenat(III).

Die Verbindung der Formel (II) ist vorzugsweise Indazolium-Hydrochlorid.

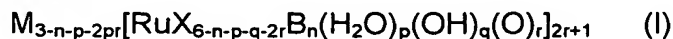
Die erfindungsgemäße Zusammensetzung kann in Form einer wässrigen Lösung vorliegen.

Ferner wird die Aufgabe der vorliegenden Erfindung durch ein Arzneimittel gelöst, das die erfindungsgemäße Zusammensetzung enthält.

Die Zusammensetzung kann weiterhin zur Behandlung von Krebserkrankungen eingesetzt werden.

Das erfindungsgemäße Verfahren zur Herstellung der Zusammensetzung umfasst die Umsetzung einer Komplexverbindung der Formel (I) mit einer Verbindung der Formel (II). Die Umsetzung erfolgt vorzugsweise in wässriger Lösung.

Weiterhin wird ein Kit zur Verfügung gestellt, der ein Behältnis mit einer Verbindung der Formel (I)



worin

M ein Alkalimetallkation oder Ammonium,

B ein ein- oder mehrkerniger basischer Heterocyclus mit einem oder mehreren Stickstoffatomen,

X ein Halogenid, Pseudohalogenid, HCO_3^- - oder $RCOO^-$, worin R ein

substituiertes oder unsubstituiertes C₁ - C₆ -Alkyl oder C₂ - C₆ -Alkenyl oder ein substituiertes oder unsubstituiertes Aryl ist,

n = 1 oder 2,

p,q = 0 oder 1 oder (falls r = 0,5) 0 oder 0,5, und

r = 0 oder 0,5 ist,

sowie ein Verhältnis mit einer Verbindung der Formel (II)

B'(HX)_s (II)

worin

B' eine ein- oder mehrkernige basische heterocyclische Gruppe mit einem oder mehreren Stickstoffatomen,

X wie vorstehend, und

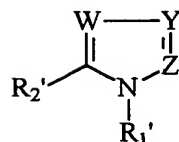
s eine ganze Zahl von 1 oder mehr ist, umfasst.

Überraschend wurde gefunden, dass eine Verbindung der allgemeinen Formel (I), die leicht wasserlöslich und lyophilisierbar ist, geeignete Formulierungsmöglichkeiten bietet durch Umsetzen mit einer Verbindung der allgemeinen Formel (II) zu einer zur Behandlung von Krebserkrankungen geeigneten erfindungsgemäßen Zusammensetzung (siehe Beispiele 1-3 und Figuren 1-4).

Im folgenden wird die erfindungsgemäße Zusammensetzung genauer erläutert.

B in der Formel (I) kann Purin, Adenin, Guanin, Cytosin, Indazol, Imidazol, Pyridin, Pyrimidin, Pyridazin oder Triazin sein, die substituiert sein können durch:

Hydroxyl, Amino, Halogen, C₂-C₄-Alkyl, C₂-C₄-Alkenyl, C₁-C₄-Alkylmercapto, Formyl-, C₁-C₄-Alkoxycarbonyl, C₁-C₄-Alkoxycarbonyl-C₁-C₄-alkylen, Di-C₁-C₄-alkyl-amino, Di-C₁-C₄-alkylamino-C₁-C₄-alkylen, Di-C₁-C₄-alkylaminocarbonyl, Di-C₁-C₄-alkylaminocarbonyl-C₁-C₄-alkylen, Hydroxyiminomethin, Phenyl, Benzyl, Benzoyl, Pyrrolidino, Piperidino, Pyrrol-1-yl oder Pyrrol-1-yl-C₁-C₄-alkylen oder einen Ring



worin

-R1' Wasserstoff, Natrium, C₁-C₄-Alkyl oder Phenyl ist, und

-R2' Wasserstoff, C₁-C₄-Alkyl, Amino, oder Phenyl ist, oder R1' und R2' zusammen eine Gruppe -(CH₂)_s- darstellen, worin s eine gerade Zahl von 4 bis 8 ist,

-W ein Stickstoff oder CR₃', worin R₃' ein Wasserstoff, C₁-C₄-Alkyl, Amino oder Phenyl, vorzugsweise Wasserstoff oder Methyl, ist,

-Y Stickstoff oder CR₄' ist, worin R₄' ein Wasserstoff, C₁-C₄-Alkyl, Amino oder Phenyl, vorzugsweise Wasserstoff oder Methyl, ist, und

-Z Stickstoff oder CR₅', worin R₅' ein Wasserstoff, C₁-C₄-Alkyl, Amino oder Phenyl, vorzugsweise Wasserstoff oder Methyl, ist.

Vorzugsweise ist wenigstens eine der Gruppen R₃', R₄' oder R₅' ein Wasserstoff.

Ferner kann B in der Formel (I) Pyrrol, 1-Methylimidazol, 4-Methylimidazol, Pyrazol, 4-Methyl-pyrazol, 1-Natriumpyrazol, 1-Phenyltetrazol, 5-Phenyltetrazol, oder Pyridin sein, das vorzugsweise in der 4-Position substituiert sein kann durch:

Hydroxy, Amino, Chlor, Diethylamino, Dimethylamino, Hydroxyiminomethin, Phenyl, Pyrrolidino, Piperidino oder Pyrrol-1-yl-methyl.

In einer bevorzugten Ausführungsform ist B in der Formel (I) ein Imidazol, Pyrazol, Triazol oder Indazol, besonders bevorzugt ein Imidazol, Triazol oder Indazol, noch stärker bevorzugt ein Triazol oder Indazol, insbesondere ein Indazol.

Ferner ist in einer bevorzugten Ausführungsform B' in der Formel (II) eine Imidazol-,

Pyrrazol-, Triazol- oder Indazol-Gruppe, besonders bevorzugt eine Imidazol-, Triazol- oder Indazol-Gruppe, noch stärker bevorzugt eine Triazol- oder Indazol-Gruppe, insbesondere eine Indazol-Gruppe.

B' und B können gleich sein, d.h. den gleichen Heterocyclus bzw. Heterocyclus-Gruppe darstellen.

Im folgenden wird das erfindungsgemäße Arzneimittel genauer beschrieben.

Die erfindungsgemäßen Arzneimittel werden vor allem intravenös, aber auch intramuskulär, intraperitoneal, subkutan oder peroral verabreicht. Auch eine äußerliche Applikation ist möglich. Bevorzugt ist die Verabreichung durch intravenöse Injektion oder intravenöse Infusion.

Die Arzneimittelzubereitungen werden nach an sich bekannten Verfahren hergestellt, wobei die erfindungsgemäße Zusammensetzung als solche oder gegebenenfalls in Kombination mit geeigneten pharmazeutischen Trägerstoffen eingesetzt wird. Enthalten die Arzneimittelzubereitungen neben dem Wirkstoff pharmazeutische Trägerstoffe, beträgt der Wirkstoffgehalt dieser Mischungen 0,1 bis 99,5, vorzugsweise 0,5 bis 95 Gew.-% der Gesamtmischung.

Der Wirkstoff kann in jeder geeigneten Formulierung angewandt werden unter der Voraussetzung, dass die Ausbildung bzw. Aufrechterhaltung von ausreichenden Wirkstoffpegeln gewährleistet ist. Das kann beispielsweise durch orale oder parenterale Gabe in geeigneten Dosen erreicht werden. Vorteilhafterweise liegt die pharmazeutische Zubereitung des Wirkstoffs in Form von Einheitsdosen vor, die auf die gewünschte Verabreichung abgestimmt sind. Eine Einheitsdosis kann zum Beispiel eine Tablette, ein Drageé, eine Kapsel, ein Suppositorium oder eine gemessene Volumenmenge eines Pulvers, eines Granulates, einer Lösung, einer Emulsion oder einer Suspension sein.

Unter "Einheitsdosis" im Sinne der vorliegenden Erfindung wird eine physikalisch bestimmte Einheit verstanden, die eine individuelle Menge des aktiven Bestandteils in Kombination mit einem pharmazeutischen Trägerstoff enthält und deren Wirkstoffgehalt einem Bruchteil oder Vielfachen einer therapeutischen Einzeldosis entspricht. Eine

Einzeldosis enthält vorzugsweise die Menge Wirkstoff, die bei einer Applikation verabreicht wird und die gewöhnlich einer ganzen, einer halben, einer drittel oder einer viertel Tagesdosis entspricht. Wenn für eine einzelne therapeutische Verabreichung nur ein Bruchteil, wie die Hälfte oder ein Viertel, der Einheitsdosis benötigt wird, ist die Einheitsdosis vorteilhafterweise teilbar, z.B. in Form einer Tablette mit Bruchkerbe.

Die erfindungsgemäßen Arzneimittel können, wenn sie in Einheitsdosen vorliegen und für Applikationen z.B. am Menschen bestimmt sind, etwa 0,1 bis 500 mg, bevorzugt 10 bis 200 mg und insbesondere 50 bis 150 mg Wirkstoff enthalten.

Im allgemeinen werden in der Humanmedizin der oder die Wirkstoffe in einer Tagesdosis von 0,1 bis 5, vorzugsweise 1 bis 3 mg/kg Körpergewicht, gegebenenfalls in Form mehrerer, vorzugsweise 1 bis 3 Einzelgaben zur Erzielung der gewünschten Ergebnisse verabreicht. Eine Einzelgabe enthält den oder die Wirkstoffe in Mengen von 0,1 bis 5, vorzugsweise 1 bis 3 mg/kg Körpergewicht. Bei einer oralen Behandlung können ähnliche Dosierungen zur Anwendung kommen.

Die therapeutische Verabreichung der pharmazeutischen Zubereitung kann 1 bis 4 mal am Tage zu festgelegten oder variierenden Zeitpunkten erfolgen, z.B. jeweils vor den Mahlzeiten und/oder am Abend. Es kann jedoch erforderlich sein, von den genannten Dosierungen abzuweichen, und zwar in Abhängigkeit von der Art, dem Körpergewicht und dem Alter der zu behandelnden Individuen, der Art und Schwere der Erkrankung, der Art der Zubereitung und der Applikation der Arzneimittelzubereitungen sowie dem Zeitraum bzw. Intervall, innerhalb welchem die Verabreichung erfolgt. So kann es in einigen Fällen ausreichend sein, mit weniger als der oben genannten Menge Wirkstoff auszukommen, während in anderen Fällen die oben angeführte Wirkstoffmenge überschritten werden muss. Es kann sich auch als zweckmäßig erweisen, die Arzneimittelzubereitungen nur einmalig oder im Abstand von mehreren Tagen zu verabreichen.

Die Festlegung der erforderlichen optimalen Dosierung und Applikationsart der Wirkstoffe kann durch jeden Fachmann aufgrund seines Fachwissens erfolgen.

Die pharmazeutischen Zubereitungen bestehen in der Regel aus der

erfindungsgemäßen Zusammensetzung und nichttoxischen, pharmazeutisch verträglichen Arzneimittelträgern, die als Zumischung oder Verdünnungsmittel, beispielsweise in fester, halbfester oder flüssiger Form oder als Umhüllungsmittel, beispielsweise in Form einer Kapsel, eines Tablettenüberzugs, eines Beutels oder eines anderen Behältnisses für den therapeutisch aktiven Bestandteil in Anwendung kommen. Ein Trägerstoff kann z.B. als Vermittler für die Arzneimittelaufnahme durch den Körper, als Formulierungshilfsmittel, als Süßungsmittel, als Geschmackskorrigens, als Farbstoff oder als Konservierungsmittel dienen.

Zur oralen Anwendung können z.B. Tabletten, Drageés, harte und weiche Kapseln, z.B. aus Gelatine, dispergierbare Pulver, Granulate, wässrige und ölige Suspensionen, Emulsionen, Lösungen oder Sirupe kommen.

Tabletten können inerte Verdünnungsmittel, z.B. Calciumcarbonat, Calciumphosphat, Natriumphosphat oder Lactose; Granulierungs- und Verteilungsmittel, z.B. Maisstärke oder Alginate; Bindemittel, z.B. Stärke, Gelatine oder Akaziengummi; und Gleitmittel, z.B. Aluminium- oder Magnesiumstearat, Talkum oder Silikonöl, enthalten. Sie können zusätzlich mit einem Überzug versehen sein, der auch so beschaffen sein kann, dass er eine verzögerte Auflösung und Resorption der Arzneimittelzubereitung im Gastrointestinaltrakt bewirkt, so dass z.B. eine bessere Verträglichkeit, Protahierung oder Retardierung erreicht wird. Gelatinekapseln können den Arzneistoff vermischt mit einem festen, z.B. Calciumcarbonat oder Kaolin, oder einem öligen, z.B. Oliven-, Erdnuss-, oder Paraffinöl, Verdünnungsmittel enthalten.

Wässrige Suspensionen können Suspendiermittel, z.B. Natriumcarboxymethylcellulose, Methylcellulose, Hydroxypropylcellulose, Natriumalginat, Polyvinylpyrrolidon, Tragantgummi oder Akaziengummi; Dispergier- und Benetzungsmittel, z.B. Polyoxyethylenstearat, Heptadecaethylenoxycatanol, Polyoxyethylensorbitolmonooleat oder Lecithin; Konservierungsmittel, z.B. Methyl- oder Propylhydroxybenzoate; Geschmacksmittel; Süßungsmittel, z.B. Saccharose, Lactose, Natriumcyclamat, Dextrose, Invertzuckersirup, enthalten.

Ölige Suspensionen können z.B. Erdnuss-, Oliven-, Sesam-, Kokos- oder Paraffinöl und Verdickungsmittel, wie z.B. Bienenwachs, Hartparaffin oder Cetylalkohol, enthalten; ferner Süßungsmittel, Geschmacksmittel und Antioxidantien.

In Wasser dispergierbare Pulver und Granulate können die erfindungsgemäße Zusammensetzung in Mischung mit Dispergier-, Benetzungs- und Suspendiermitteln, z.B. den oben genannten, sowie mit Süßungsmitteln, Geschmacksmitteln und Farbstoffen enthalten.

Emulsionen können z.B. Oliven-, Erdnuss-, oder Paraffinöl neben Emulgiermitteln, wie z.B. Akaziengummi, Traganthgummi, Phosphatiden, Sorbitanmonooleat, Polyoxyethylensorbitanmonooleat, und Süßungs- und Geschmacksmittel enthalten.

Wässrige Lösungen können Konservierungsmittel, z.B. Methyl- oder Propylhydroxybenzoate; Verdickungsmittel; Geschmacksmittel; Süßungsmittel, z.B. Saccharose, Lactose, Natriumcyclamat, Dextrose, Invertzuckersirup, sowie Geschmacksmittel und Farbstoffe enthalten.

Zur parenteralen Anwendung der Arzneistoffe dienen steril injizierbare, wässrige Lösungen, isotonische Salzlösungen oder sonstige Lösungen.

Im folgenden wird der erfindungsgemäße Kit genauer erläutert.

In der Klinik kann die Anwendung der erfindungsgemäßen Zusammensetzung am Patienten durch Bereitstellung eines Kits erfolgen, der eine Ampulle mit dem Natriumsalz des Wirkstoffes sowie getrennt davon eine Infusionslösung enthält, die eine äquimolare oder auch eine höhere Konzentration z.B. des Heterozyclus-Hydrochlorids enthält. Vor der Anwendung am Patienten kann der in Wasser aufgelöste Inhalt der Ampulle in die Infusionsflasche eingespritzt werden. Dadurch wird die erfindungsgemäße Zusammensetzung gebildet, die sofort am Patienten angewandt werden kann.

Allgemeine Herstellungsvorschrift

Die Herstellung der Verbindungen der allgemeinen Formel (I) kann nach der in der WO 97/36595 beschriebenen Vorschrift erfolgen. Die Herstellung der Verbindungen der Formel (II) erfolgt nach bekannten Verfahren.

Im folgenden wird die Erfindung anhand von Beispielen erläutert.

Beispiel 1

Die Verbindung Natrium *trans*-[RuCl₄(ind)₂], KP 1339, die leicht wasserlöslich und lyophilisierbar ist, wurde mit Indazoliumhydrochlorid zu einer erfindungsgemäßen Zusammensetzung, enthaltend Indazolium *trans*-[tetrachlorobis(1H-indazol)ruthenat(III)] (KP 1019) und Natriumchlorid umgesetzt (siehe Abbildung 1).

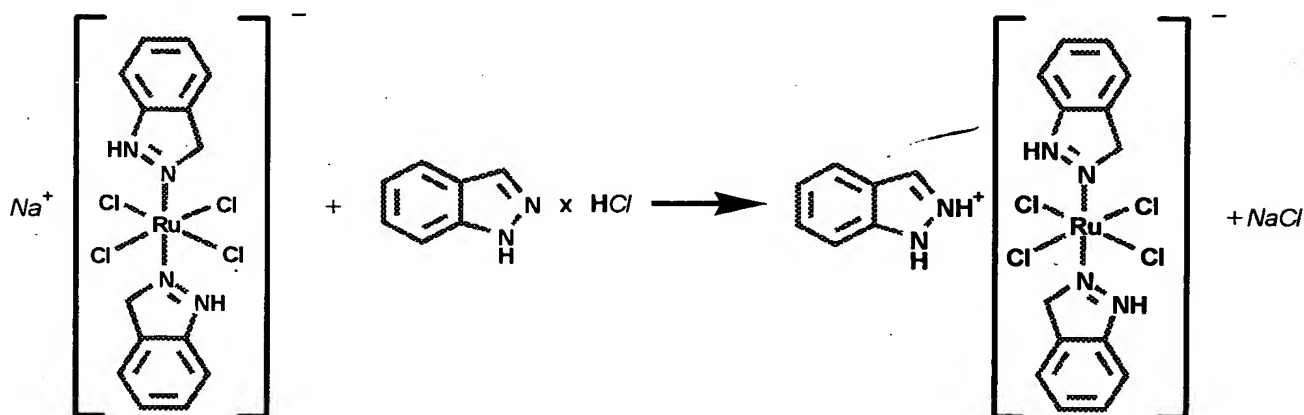


Abbildung 1: Bildung einer erfindungsgemäßen Zusammensetzung, enthaltend Indazolium *trans*-[tetrachlorobis(1H-indazol)ruthenat(III)] (KP 1019) und Natriumchlorid, durch Umsetzen von KP 1339 und Indazoliumhydrochlorid.

Beispiel 2

Es wurden Zytotoxizitätsstudien der gemäß Beispiel 1 erhaltenen Zusammensetzung durchgeführt. Die Zusammensetzung wurde durch Umsetzen des Natriumsalzes KP

1339, das eine mehr als dreißigfach höhere Wasserlöslichkeit als KP 1019 aufweist, mit Indazoliumhydrochlorid in der Infusionslösung unmittelbar vor der Verabreichung erhalten.

Da Experimente an Stammzellen humaner solider Tumoren, welche als Nacktmaus-Xenografts weitergezüchtet wurden, sowie an kontinuierlichen humanen Tumorzelllinien übereinstimmend gezeigt haben, dass KP 1339 *in vitro* eine deutlich schwächere antiproliferative Wirksamkeit aufweist als KP 1019, wurde in weiteren Versuchen abgeklärt, inwieweit die stärkere Aktivität von KP 1019 durch Zugabe von Indazol zu Lösungen von KP 1339 wiederhergestellt werden kann.

Die tumorhemmende Aktivität der äquimolaren Mischung aus KP 1339 und Indazol erwies sich als identisch zu jener des ursprünglichen KP 1019 (siehe Figuren 1 und 2), während reines KP 1339 drei- bis viermal weniger wirksam war als KP 1019. Dies wurde an zwei Tumorzelllinien (SW480, CH1) bestätigt und viermal reproduziert. In diesen Experimenten wurde die geringere Wirksamkeit von KP 1339 im Vergleich zu KP 1019 bestätigt.

Beispiel 3

In den ersten Experimenten mit Zusammensetzungen, die durch Umsetzen von KP 1339 mit Indazoliumhydrochlorid im molaren Verhältnis 1:1 erhalten wurden, konnte gezeigt werden, dass hierdurch die zytotoxische Aktivität des ursprünglichen KP 1019 erreicht wird. Weitere Experimente gaben Aufschluß darüber, in welcher Weise sich ein Überschuss von Indazol auf die Zytotoxizität auswirkt.

Die zytotoxischen Effekte von KP 1019 sowie Kombinationen von KP 1339 und Indazol in unterschiedlichen molaren Verhältnissen (verabreicht als Lösung in konventionellem Zellkulturmedium MEM, supplementiert mit 10 % fetalem Rinderserum, ohne Zugabe von organischen Lösungsmitteln oder Lösevermittlern) wurden an den humanen Tumorzelllinien SW480 (Kolonkarzinom) und CH1 (Ovarialkarzinom) im MTT-Assay unter Verwendung einer kontinuierlichen 96stündigen Wirkstoffexposition vergleichend untersucht.

Es zeigte sich überraschend, dass die tumorhemmende Aktivität durch Zugabe eines Überschusses von Indazol weiter gesteigert werden kann. Eine Mischung von KP 1339 und Indazol im molaren Verhältnis von 1 : 5 ergab eine zwei- bis fünffache Steigerung der Zytotoxizität verglichen mit KP 1019 (siehe Figuren 3 und 4). Ein molares Verhältnis von 1 : 2 ist bereits ausreichend, um die Wirksamkeit des ursprünglichen KP 1019 zu übertreffen. Indazol selbst übt erst in weit höherer Konzentration ($> 1 \text{ mM}$) eine zytotoxische Wirkung aus. Die Steigerung der tumorhemmenden Aktivität der Lösungen, die Indazol im Überschuss enthalten, kann daher nicht durch eine rein additive Wirkung der Komponenten erklärt werden, sondern ist entweder auf eine synergistische Wirkung, einen positiven Effekt des freien Indazol auf die Stabilität des Komplexes oder auf einen unbekannten Mechanismus zurückzuführen. Der diskontinuierliche Verlauf der Dosis-Wirkungs-Kurve an der Zelllinie SW480, der sich in fünf unabhängigen Versuchsdurchführungen als strikt reproduzierbar erwies, deutet auf eine komplexe Interaktion zwischen KP 1339 und Indazol hin.

Figur 1

Vergleich der zytotoxischen Effekte von KP 1019, des korrespondierenden Natriumsalzes KP 1339, Indazol sowie der äquimolaren Mischung von KP 1339 und Indazol (verabreicht als Lösung in konventionellem Zellkulturmedium MEM, supplementiert mit 10 % fetalem Rinderserum, ohne Zugabe von organischen Lösungsmitteln oder Lösevermittlern) an der humanen Tumorzelllinie SW480 (Kolonkarzinom) im MTT-Assay bei kontinuierlicher 96stündiger Wirkstoffexposition.

Figur 2

Vergleich der zytotoxischen Effekte von KP 1019, des korrespondierenden Natriumsalzes KP 1339, Indazol sowie der äquimolaren Mischung von KP 1339 und Indazol (verabreicht als Lösung in konventionellem Zellkulturmedium MEM, supplementiert mit 10 % fetalem Rinderserum, ohne Zugabe von organischen Lösungsmitteln oder Lösevermittlern) an der humanen Tumorzelllinie CH1 (Ovarialkarzinom) im MTT-Assay bei kontinuierlicher 96stündiger Wirkstoffexposition.

Figur 3

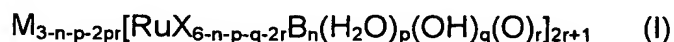
Vergleich der zytotoxischen Effekte von KP 1019, Indazol sowie von Mischungen von KP 1339 und Indazol in den molaren Verhältnissen 1 : 1 bzw. 1 : 5 (verabreicht als Lösung in konventionellem Zellkulturmedium MEM, supplementiert mit 10 % fetalem Rinderserum, ohne Zugabe von organischen Lösungsmitteln oder Lösevermittlern) an der humanen Tumorzelllinie SW480 (Kolonkarzinom) im MTT-Assay bei kontinuierlicher 96stündiger Wirkstoffexposition.

Figur 4

Vergleich der zytotoxischen Effekte von KP 1019, Indazol sowie von Mischungen von KP 1339 und Indazol in den molaren Verhältnissen 1 : 1 bzw. 1 : 5 (verabreicht als Lösung in konventionellem Zellkulturmedium MEM, supplementiert mit 10 % fetalem Rinderserum, ohne Zugabe von organischen Lösungsmitteln oder Lösevermittlern) an der humanen Tumorzelllinie CH1 (Ovarialkarzinom) im MTT-Assay bei kontinuierlicher 96stündiger Wirkstoffexposition.

Patentansprüche

1. Zusammensetzung, erhältlich durch Umsetzen einer Komplexverbindung der allgemeinen Formel (I)



worin

M ein Alkalimetallkation oder Ammonium,

B ein ein- oder mehrkerniger basischer Heterocyclus mit einem oder mehreren Stickstoffatomen,

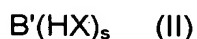
X ein Halogenid, Pseudohalogenid, HCO_3^- - oder $RCOO^-$, worin R ein substituiertes oder unsubstituiertes $C_1 - C_6$ -Alkyl oder $C_2 - C_6$ -Alkenyl oder ein substituiertes oder unsubstituiertes Aryl ist,

$n = 1$ oder 2 ,

$p, q = 0$ oder 1 oder (falls $r = 0,5$) 0 oder $0,5$, und

$r = 0$ oder $0,5$ ist,

mit einer Verbindung der Formel (II)



worin

B' eine ein- oder mehrkernige basische heterocyclische Gruppe mit einem oder mehreren Stickstoffatomen,

X wie vorstehend, und

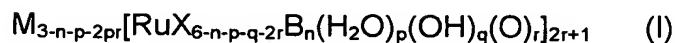
s eine ganze Zahl von 1 oder mehr ist.

2. Zusammensetzung nach Anspruch 1, worin B in der Formel (I) ein Imidazol, Pyrrazol, Triazol oder Indazol ist.
3. Zusammensetzung nach Anspruch 1 oder 2, worin B' in der Formel (II) eine Imidazol-, Pyrrazol-, Triazol- oder Indazol-Gruppe ist.

4. Zusammensetzung nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 3, worin M in der Formel (I) Lithium, Natrium oder Kalium ist.
5. Zusammensetzung nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 4, worin X in der Formel (I) oder (II) Chlor oder Brom ist.
6. Zusammensetzung nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 5, wobei das molare Verhältnis der Verbindung der Formel (I) zur Verbindung der Formel (II) < 1 ist.
7. Zusammensetzung nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 6, wobei das molare Verhältnis der Verbindung der Formel (I) zur Verbindung der Formel (II) zwischen 1:2 und 1:5 liegt.
8. Zusammensetzung nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 7, wobei die Verbindung der Formel (I) Natrium-*trans*-[tetrachlorobis(1H-indazol)-ruthenat(III)] ist.
9. Zusammensetzung nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 8, wobei die Verbindung der Formel (II) Indazolium-Hydrochlorid ist.
10. Zusammensetzung nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 9 in Form einer wässrigen Lösung.
11. Arzneimittel, enthaltend eine Zusammensetzung nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 10.
12. Verwendung einer Zusammensetzung nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 10 zur Behandlung von Krebserkrankungen.
13. Verfahren zur Herstellung einer Zusammensetzung nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 10, wobei eine Komplexverbindung der Formel (I) mit einer Verbindung der Formel (II) umgesetzt wird.

14. Verfahren nach Anspruch 13, wobei die Umsetzung in wässriger Lösung erfolgt.

15. Kit, enthaltend ein Behältnis mit einer Verbindung der Formel (I)



worin

M ein Alkalimetallkation oder Ammonium,

B ein ein- oder mehrkerniger basischer Heterocyclus mit einem oder mehreren Stickstoffatomen,

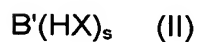
X ein Halogenid, Pseudohalogenid, HCO_3^- - oder $RCOO^-$, worin R ein substituiertes oder unsubstituiertes $C_1 - C_6$ -Alkyl oder $C_2 - C_6$ -Alkenyl oder ein substituiertes oder unsubstituiertes Aryl ist,

$n = 1$ oder 2 ,

$p, q = 0$ oder 1 oder (falls $r = 0,5$) 0 oder $0,5$, und

$r = 0$ oder $0,5$ ist,

sowie ein Behältnis mit einer Verbindung der Formel (II)



worin

B' eine ein- oder mehrkernige basische heterocyclische Gruppe mit einem oder mehreren Stickstoffatomen,

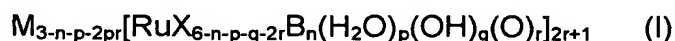
X wie vorstehend, und

s eine ganze Zahl von 1 oder mehr ist.

Zusammenfassung

Zusammensetzungen, enthaltend einen Ruthenium(III)-komplex und einen Heterocyclus, Verfahren zu deren Herstellung, Arzneimittel, enthaltend diese Zusammensetzungen, und ein Kit

Die Erfindung betrifft eine Zusammensetzung, erhältlich durch Umsetzen einer Komplexverbindung der allgemeinen Formel (I)



worin

M ein Alkalimetallkation oder Ammonium,

B ein ein- oder mehrkerniger basischer Heterocyclus mit einem oder mehreren Stickstoffatomen,

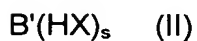
X ein Halogenid, Pseudohalogenid, HCO_3^- oder $RCOO^-$, worin R ein substituiertes oder unsubstituiertes $C_1 - C_6$ -Alkyl oder $C_2 - C_6$ -Alkenyl oder ein substituiertes oder unsubstituiertes Aryl ist,

$n = 1$ oder 2 ,

$p, q = 0$ oder 1 oder (falls $r = 0,5$) 0 oder $0,5$, und

$r = 0$ oder $0,5$ ist,

mit einer Verbindung der Formel (II)



worin

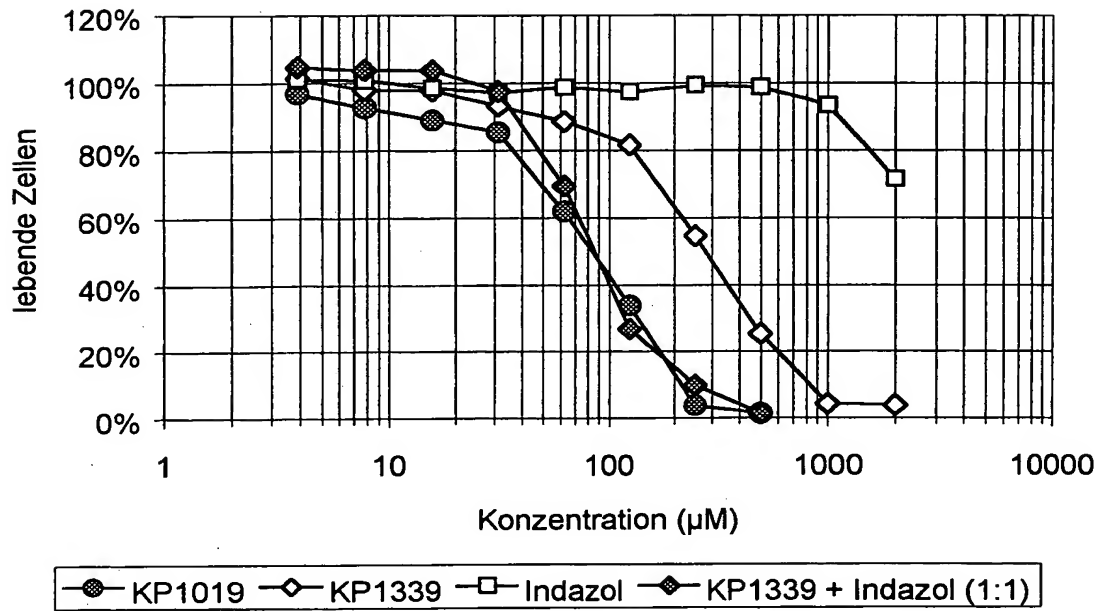
B' eine ein- oder mehrkernige basische heterocyclische Gruppe mit einem oder mehreren Stickstoffatomen,

X wie vorstehend, und

s eine ganze Zahl von 1 oder mehr ist.

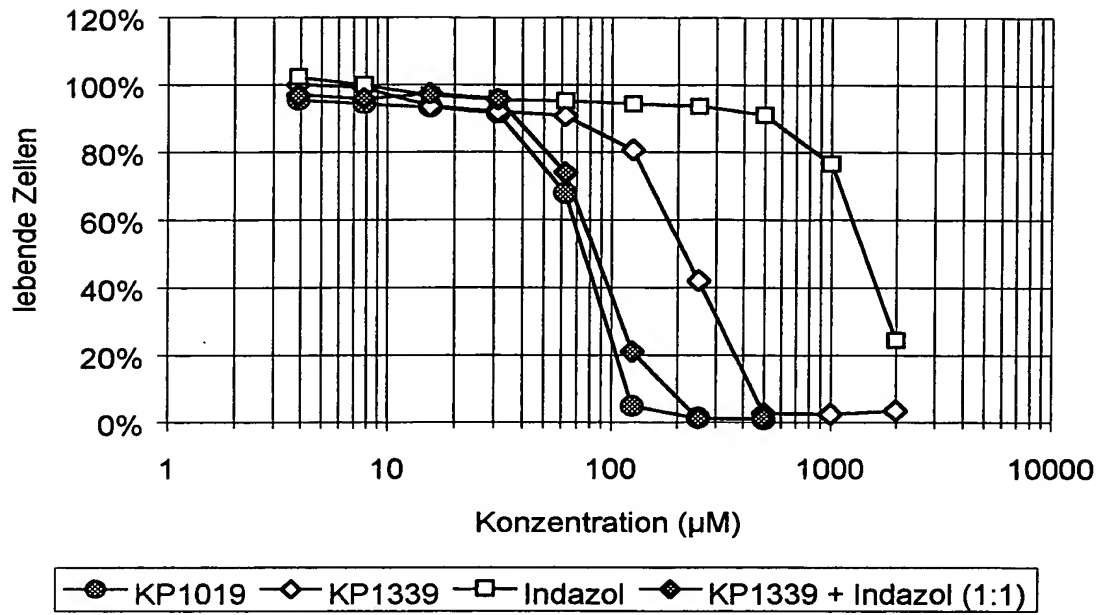
Figur 1

SW480



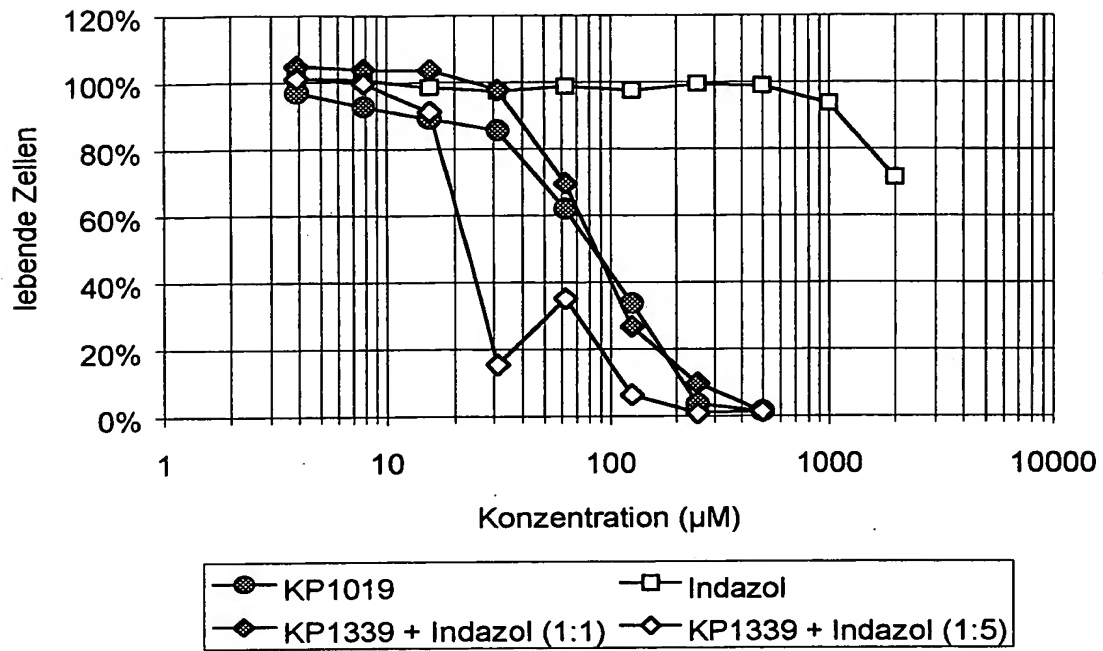
Figur 2

CH1



Figur 3

SW480



Figur 4

CH1

